

## Синтез новых дипептидных конъюгатов глицирризиновой кислоты – потенциальных иммуномодуляторов и анти-ВИЧ-1 агентов

Балтина Л.А.,\* Чистоедова Е.С., Салихов Т.Р.

Институт органической химии Уфимского научного центра РАН, проспект Октября, 71, Уфа. Факс: 347 235 6066; E-mail: baltina@anrb.ru

Синтезированы новые дипептидные конъюгаты глицирризиновой кислоты (ГК), содержащие остатки Met-Glu(OMe)<sub>2</sub>, Ile-Glu(OMe)<sub>2</sub>, Phe-Glu(OMe)<sub>2</sub>, Gly-Glu(OMe)<sub>2</sub>, Tyr-Pro, Phe-Pro, представляющие интерес в качестве иммуномодуляторов и анти-ВИЧ-1 агентов.

### Введение

Одним из современных подходов в поиске новых иммуномодуляторов и анти-ВИЧ агентов является структурная модификация природных соединений с высокой оральной биодоступностью, низкой токсичностью и потенциальной анти-ВИЧ активностью. К числу лидирующих природных соединений, представляющих интерес в качестве базовой структуры (core) для создания новых высокоэффективных противовирусных препаратов и средств для лечения и профилактики иммунодефицитов различной этиологии, можно отнести глицирризиновую кислоту (ГК) (**I**) – основной тритерпеновый сапонин экстракта корней солодки голой и уральской (*Glycyrrhiza glabra* L., *G. uralensis* Fisher).

### Результаты и обсуждение

Ранее нами было показано, что ГК ингибирует вирусспецифический белок p24 с ID<sub>50</sub> = 125 мкг/мл (50% ингибирующая концентрация) и имеет индекс селективности (IS) 10,3, являясь нетоксичным для клеток МТ-4 веществом (CD<sub>50</sub> = 1950 мкг/мл; 50% цитотоксическая концентрация), а конъюгаты ГК, содержащие остатки дикарбоновых кислот и глицинсодержащих дипептидов, представляют интерес в качестве потенциальных иммуномодуляторов и анти-ВИЧ-1 агентов<sup>1</sup>.

В продолжение этих работ нами осуществлен синтез новых дипептидных конъюгатов ГК (**2a-d**), содержащих остатки метиловых эфиров глутаминовой кислоты (Glu) в качестве концевой аминокислоты. Конъюгирование ГК с дипептидами проводили с помощью реагента Вудворда К (N-фенилизоксазолий сульфоната) (RWK) в качестве конденсирующего реагента в среде диметилформамида (DMF) в присутствии избытка N-этилфолина (NEM) (схема).

Синтез защищенных дипептидов провели методом активированных эфиров с использованием трет-бутилоксикарбонил (Boc) аминокислот в виде 4-нитрофениловых (Np) эфиров. В качестве С-

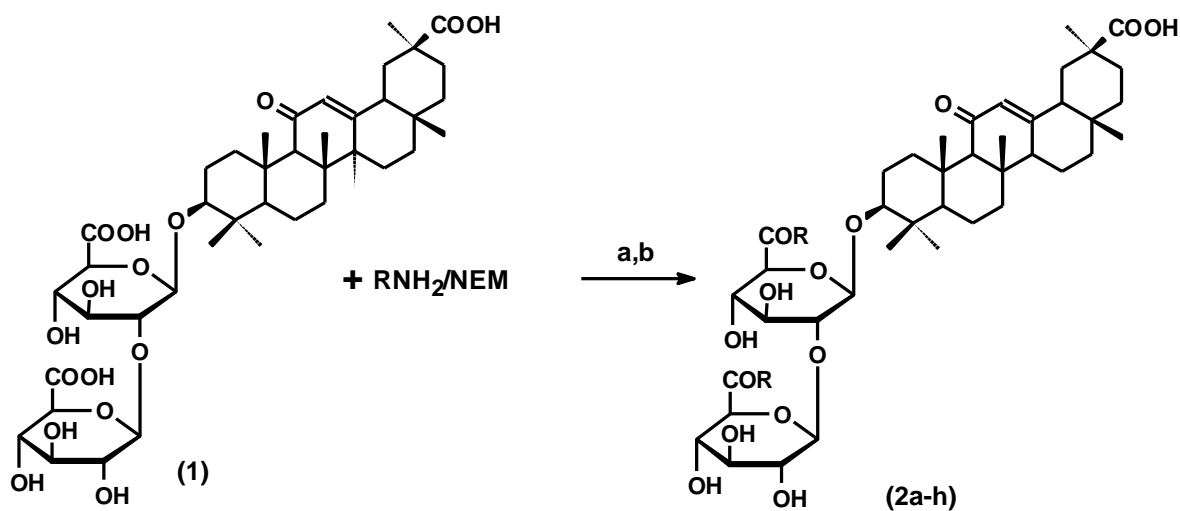
защитной группы использовали диметилвые эфиры L-глутаминовой кислоты в виде гидрохлоридов. Выходы защищенных дипептидов составили 78-80%. Вос-защиту дипептидов удаляли смесью CF<sub>3</sub>COOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> и вводили в реакцию с ГК без дальнейшей очистки в присутствии избытка NEM и RWK в среде DMF при 45-50 °С. Продукты очищались колоночной хроматографией (КХ) на силикагеле (СГ). Выходы целевых конъюгатов (**2a-d**) составили 50-52%.

С целью получения селективных ингибиторов протеазы ВИЧ-1 осуществлен синтез дипептидных производных ГК (**2e-h**), содержащих остатки Phe-Pro и Tyr-Pro, по которым происходит расщепление протеинов gag и pol (участки p17/p24), несущих генетическую информацию, под действием протеазы ВИЧ, в результате чего образуются структурные протеины и ферменты новых вирусных частиц<sup>2</sup>.

Синтез защищенных дипептидов BocTyr-ProOBu<sup>t</sup> и BocPhe-OBu<sup>t</sup> провели также методом активированных эфиров, используя оксисукуцинимидные (OSu) эфиры Вос-аминокислот и трет-бутиловый эфир L-пролина в виде гидрохлорида. Реакции проводились в DMF в присутствии NEM при 45-50 °С. Конъюгирование с ГК проводилось также с помощью RWK как описано выше после удаления Вос-защиты. Конъюгаты, содержащие трет-бутиловые защитные группы, обрабатывались CF<sub>3</sub>COOH в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> для деблокирования С-конца дипептидов. Целевые продукты выделялись КХ на СГ с выходами 48-50%.

Структура полученных соединений подтверждена ИК, ЯМР <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C спектрами. В ИК-спектрах конъюгатов появляется характеристическая частота 1540-1550 см<sup>-1</sup> (CONH). В спектрах ЯМР <sup>1</sup>H конъюгатов ГК, содержащих остатки Glu(OMe)-OMe, наблюдаются сигналы протонов COOCH<sub>3</sub> в области 3.5-3.7 м.д. Спектры ЯМР <sup>13</sup>C конъюгатов содержат ХС свободной С<sup>30</sup>ООН группы агликона при 179-180 м.д. и дополнительные сигналы атома углерода С=О аминокислот в области слабого поля (171-174 м.д.).

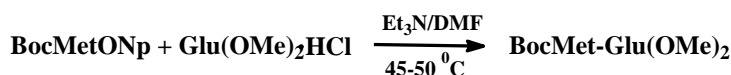
Новые производные ГК представляют интерес в качестве потенциальных иммуномодуляторов и анти-ВИЧ-1 агентов.



a) RWK/NEM/DMF  
b)  $\text{CF}_3\text{COOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$

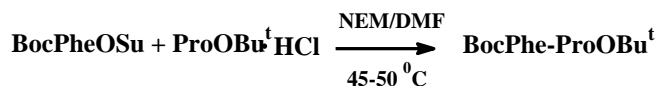
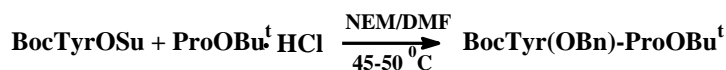
R = a) Met-Glu(OMe)<sub>2</sub>; b) Ile-Glu(OMe)<sub>2</sub>;  
c) Phe-Glu(OMe)<sub>2</sub>; d) Gly-Glu(OMe)<sub>2</sub>;  
e) Tyr-ProOBu<sup>t</sup>; f) Phe-ProOBu<sup>t</sup>;  
g) Tyr-Pro; h) Phe-Pro

48-52%



BocIle-Glu(OMe)<sub>2</sub>; BocIle-Glu(OMe)<sub>2</sub>; BocGly-Glu(OMe)<sub>2</sub>;

78-80%



NEM = N-ethylmorpholine; HOSu = N-hydroxysuccinimide;

Bn =  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$ ; Boc =  $(\text{CH}_3)_3\text{COCO}$ ; Bu<sup>t</sup> =  $(\text{CH}_3)_3\text{C}$

## Экспериментальная часть

**Общая методика синтеза конъюгатов ГК.** К раствору 1 ммоль ГК в 20-25 мл DMF прибавляли 5-7 ммоль NEM и 2.5-3 ммоль RWK при 0-5 °C и перемешивали при охлаждении 2 ч и при 20-22 °C 2 ч. Затем прибавляли еще 5 ммоль NEM и 2.0-2.5 ммоль трифторацетата дипептида. Смесь выдерживали с периодическим перемешиванием 48 ч, упаривали на 1/2 объема, разбавляли холодной водой и отфильтровывали образующийся осадок. Полученные продукты очищали КХ на СГ, элюируя смесью  $\text{CHCl}_3$ -MeOH- $\text{H}_2\text{O}$  (300:10:1→50:10:1,

ступенчатый градиент). Чистота соединений контролировалась ТСХ. 2009. Т. 35. С. 563-571. Гомогенные по ТСХ фракции объединяли и упаривали.

Работа выполнена при финансовой поддержке НШ 3756.2010.3 и ГК 14.740.11.0367.

## Библиографический список

- 1 Балтина Л.А., Кондратенко Р.М., Балтина Л.А., Басченко Н.Ж., Плясунова О.А. // Биоорган. химия.
- 2 Mastrolorenzo A., Rusconi S., Scozzafava A., Barbaro G., Supuran C. // Curr. Med. Chem. 2007. V. 14. P. 2734-2748.